View metadata, citation and similar papers at core.ac.uk
brought to you by CORE
provided by Tsukuba Repository

Identification of asporin as a susceptibility gene for osteoarthritis and its physiological role in articular cartilage

著者	木澤 秀樹
内容記述	Thesis (Ph. D. in Agricultural Science)--University of Tsukuba, (B), no. 2201, 2006.3.24 Includes bibliographical references
発行年	2006
URL	http://hdl.handle.net/2241/18224

【386】

氏　名（本籍）	木　澤　秀　樹（茨 城 県）（き ざわ ひで き）
学 位 の 種 類	博　　士（農　　学）
学 位 記 番 号	博　乙　第　2201　号
学位授与年月日	平成 18 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当
審 査 研 究 科	生命環境科学研究科
学 位 論 文 題 目	**Identification of Asporin as a Susceptibility Gene for Osteoarthritis and Its Physiological Role in Articular Cartilage** （変形性関節症感受性遺伝子としてのアスポリンの同定とその関節軟骨における生理的役割）

主　査	筑波大学教授	農学博士	深　水　昭　吉
副　査	筑波大学教授	農学博士	小　林　達　彦
副　査	筑波大学教授	博士（薬学）	柳　澤　　純
副　査	筑波大学助教授	博士（農学）	谷　本　啓　司

論 文 の 内 容 の 要 旨

変形性関節症（OA）は，膝などの関節軟骨が変性，消失し，骨同士が直接接触することにより痛みや機能障害を引き起こす多因子疾患である。現時点でその発症の原因および有効な治療法は知られていないことから，著者は OA 感受性遺伝子の同定を目的として本研究を行った。

アスポリンは，SLRP（Small leucine-rich proteoglycan）ファミリーに属する機能未知の細胞外基質タンパクであり，その N 末にアスパラギン酸（D）のリピート多型（D10-D19）を有する。このファミリーに属するタンパクの KO マウスに OA を発症するものがあることと，OA 患者の関節軟骨でアスポリン遺伝子（*ASPN*）の発現が著明に増加していたことから，*ASPN* を多型解析の候補遺伝子として選んだ。解析の結果，D リピート多型は日本人膝関節 OA と股関節 OA の両方と有意な相関を示し，膝関節 OA の重症な人ほど D14 を持つ割合が高いことがわかった。

次に，この相関解析の結果を機能的に検証することを目的として，*in vitro* 軟骨分化モデルである ATDC5 細胞におけるアスポリンの機能を調べた。アスポリンは ATDC5 細胞における軟骨分化を抑制し，TGF-b 刺激による軟骨分化マーカーの発現上昇を抑制することが分かった。そこで，D14 と他のアレルとの間でアスポリンの TGF-b 作用抑制活性の強さを比較したところ，D14 の活性は他のアレルを持つアスポリンより有意に強かった。

OA は関節軟骨の疾患であることから，次に正常ヒト関節軟骨細胞（NHAC）におけるアスポリンの生理的役割について調べた。アスポリンは NHAC においても TGF-bl による軟骨基質遺伝子の発現を抑制した。アスポリン特異的 siRNA は軟骨基質遺伝子の発現を有意に増加させた。アスポリンの発現は TGF-bl により一過性に誘導された。アスポリンは TGF-bl と *in vitro* で結合活性を示し，細胞外で TGF-bl と co-localize した。さらに，OA 患者関節軟骨病変部では，アスポリンと TGF-bl の発現が非病変部よりも増加しており，それらの一部が co-localize する像も認められた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

アスポリン（*ASPN*）はSLRPファミリーに属する細胞外基質タンパクの役割を担うのでないかと考えられていたが，機能は同定されていなかった。本研究は，アスポリンのN-末端側にあるDリピートとOAの関節軟骨でアスポリン遺伝子が有意に発現増強していることに着目し，OA感受性遺伝子と同定した点が特筆に値する。特に，Dリピートは，神経性疾患発症においても遺伝子変異を伴う機能変換機構として注目を集めている。そこで筆者は，アスポリンDリピート多型の違いが軟骨基質産生抑制作用の強さの個体差をもたらし，OA感受性を決める要因であると提唱している。また，正常軟骨ではアスポリンの誘導的な発現調節によりTGF-blの軟骨基質産生作用は一定レベルに制御されているが，OA軟骨ではアスポリンの異常な高発現により関節軟骨細胞におけるTGF-blに対する感受性が低下し，このことがOAの発症・進展をもたらす一因であると考察している。これらのことから，アスポリンが関節軟骨細胞におけるTGF-bl作用をnegative feedback調節する制御因子であることを示唆した。

以上のように，本研究の成果から，アスポリンの発現や作用を抑制することで軟骨基質産生能を賦活化するという新たなOA治療の可能性が提示され，分子遺伝学から治療応用への基盤的道筋を示す画期的な研究であると判断される。

よって，著者は博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。